

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN SUELOS ALUVIALES DE LOS LLANOS CENTRO – OCCIDENTALES

Noemi Cañizales P., María Tovar L. y Magaly Ruiz D.

Centro de Investigación y Extensión en Suelos y Aguas (CIESA), Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos, San Juan de los Morros, Guárico. miminita@gmail.com

RESUMEN

Se determinó la actividad de las enzimas ureasa, proteasa y fosfatasa ácida, con el objeto de evaluar su utilización como potenciales indicadores de cambios biológicos en suelos aluviales de los Llanos Centro-Occidentales (estado Cojedes), ubicados en dos agrosistemas (cultivo ciclo corto, pasto) y en un bosque de galería (como suelo control), a tres profundidades, en posiciones distintas de una transecta. La actividad de la ureasa resultó significativamente mayor en el agrosistema de cultivo de ciclo corto, mientras que las actividades de la proteasa y fosfatasa mostraron valores más altos en los suelos bajo vegetación natural y pasto. Todas las actividades enzimáticas disminuyeron con la profundidad. Aún cuando el contenido de carbono orgánico total no mostró diferencias entre los suelos bajo cultivo de ciclo corto y vegetación natural, las actividades de las enzimas reflejaron divergencias, por lo que podrían ser consideradas como bioindicadores tempranos de los cambios que ocurran en la calidad de esos suelos.

Palabras Claves: ureasa, proteasa, fosfatasa ácida, indicadores biológicos, agrosistemas.

INTRODUCCIÓN

En el suelo, que puede ser considerado como una entidad biológica con complejas reacciones bioquímicas, las enzimas juegan un papel importante desde el punto de vista ecológico, al catalizar innumerables reacciones (Dick, 1997). El estudio de las actividades de las enzimas, permite conocer sobre los procesos bioquímicos en el suelo y son consideradas como biosensores de los cambios que puedan producirse en la calidad de tan importante recurso, a consecuencia de las prácticas de manejo agrícola, o la contaminación. La presencia de una mayor actividad biológica en los primeros centímetros del perfil del suelo ha sido poco discutida (Dick, 1984, Martens et al., 1992), no obstante se ha señalado que el manejo al cual es sometido el sistema puede provocar modificaciones importantes de los parámetros vinculados a dicha actividad. La mayoría de las investigaciones realizadas bajo diferentes condiciones agroclimáticas en varios países (Argentina, Brasil, Colombia y Australia) están dirigidas principalmente al desarrollo de indicadores que puedan cuantificar cambios ocasionados por el manejo de un determinado sistema (Astier, *et al.*, 2002; Adriaanse, 1993). Habitualmente los parámetros que se determinan dependen del alcance del estudio, por ejemplo algunos de los más usados son: el contenido de carbono, nitrógeno de la biomasa microbiana, mineralización del N, el ATP, la respiración del suelo, la actividad de las enzimas del tipo oxidoreductasas como la deshidrogenasa y catalasa, estas últimas consideradas como una medida generalizada de los procesos microbianos del suelo (García et al., 2003). Sin embargo, otros parámetros bioquímicos como la mayoría de las enzimas del tipo hidrolasas, implicadas en los ciclos de

los elementos nutritivos como es el caso de las carbohidrasas, quitinasas, β -glucosidasa implicadas en el ciclo del carbono, las fosfatasa en el ciclo del fósforo, ureasa y proteasa en el ciclo del nitrógeno y la arilsulfatasa en el ciclo del S; son consideradas como parámetros específicos porque corresponden a reacciones concretas y dependen de sustratos específicos (Nannipieri et al., 1990). El objetivo de este estudio fue determinar la actividad de la fosfatasa ácida, ureasa y proteasa, a fin de evaluar su utilización como potenciales indicadores de cambios biológicos y bioquímicos en suelos aluviales de los Llanos Centro-Occidentales bajo diferente cobertura vegetal.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Fundo Zamorano Independencia, Estado Cojedes, ubicado en la región fisiográfica de los Llanos, provincia natural de los Llanos Altos Occidentales. El paisaje corresponde a una planicie y el subpaisaje a una llanura aluvial. La zona de estudio se ubica entre las coordenadas UTM, Datum La Canoa, 1 034 000 – 1 054 000 N y 537 000 – 547 000 E, a una altura de 80 y 120 m.s.n.m. Las medias de la temperatura máxima anual es de 28 °C y de la mínima es de 21.4 °C, con una oscilación térmica de 11 °C. La precipitación media anual es 1321,72 mm, con un período seco que va desde diciembre a marzo y otro lluvioso de mayo a octubre, siendo los meses de abril y noviembre transicionales. El promedio anual de evaporación es 1.808 mm. Según la clasificación de Holdridge, corresponde a un bosque seco tropical.

En el Cuadro 1 se presenta la clasificación de los suelos de los tres agrosistemas analizados y la caracterización físico-química.

Cuadro 1. Clasificación de los suelos y características físico-química de los suelos.

Agroecosistema	Geomorfología	Taxonomía	Profundidad cm	Textura	pH	CE	N	CIC	%C
Pasto	Napa de explayamiento	Typic paleustalfs,F,f	0 - 10	F, FA, FL	5.43	0.12	0.169	8.20	0,86
			10 - 20	FA, F, AL, A	6.4	0.04	0.078	4.70	0,28
			20 - 30	FA, F, AL, A	7.1	0.03	0.054	4.50	0,20
Cultivo Ciclo Corto	Cubeta de Decantación	Typic Endoaqualfs,A,f	0 - 10	Fa, FAa	5.1	0.17	0.189	8.90	1,04
			10 - 20	Fa, F	4.9	0.05	0.099	7.40	0,60
			20 - 30	Fa, FA, FAa	5.1	0.06	0.088	8.00	0,34
Bosque de Galería	Cubeta de Desborde/Napa de explanamiento	Typic Epiqualfs,A,f	0 - 10	A, FAL, FA, FAa, F	6.0	0.09	0.140	13.90	1,12
			10 - 20	A, FAL, FA, FAa, F	6.4	0.05	0.060	13.10	0,51
			20 - 30	A, Aa, F, FA	6.5	0.04	0.047	13.10	0,35

Fa: Franco arenoso, FAa: Franco Arcilloso arenoso, F: Franco, FA: Franco Arcilloso, FL: Franco Limoso; AL: Arcilloso Limoso, A: Arcilloso, FAL: Franco Arcilloso Limoso, Aa: Arcilloso arenoso

Muestreo de Suelo y Diseño Experimental. El muestreo se ejecutó en dos agrosistemas: zona de pastura, zona sembrada con cultivo de ciclo corto (maíz, frijol), y en un bosque de galería (como suelo control). Para cada agrosistema se delimitó una superficie de aproximadamente 1,5 ha, donde se procedió a la toma de muestras. Los agrosistemas pasturas de la región comprenden principalmente cultivos permanentes de labranza reducida, con o sin fertilización, y un alto uso de pesticidas y ausencia de prácticas de conservación (Lugo-Morin y Rey, 2009). Las principales forrajeras presentes son pastos aguja (*Urochloa humidicola*), barrera (*Urochloa decumbens*), estrella (*Cynodon lemfuensis*), guinea (*Panicum maximum*), (*Urochloa mutica*), pasto alemán (*Echinochloa polystachya*, sabanero (*Andropogon gayanus*), suazi (*Digitaria swazilandensis*) y brachipará (*Urochloa mutica*) (Tejos, 2004). Los bosques de galería o bosques ribereños se encuentran ubicados a lo largo de los cursos de agua y están constituidos por árboles de mediana altura, densidad mediana y rala. Por hallarse una mayor disponibilidad de agua, estas comunidades boscosas están dominadas por una mezcla de especies deciduas y perennifolias; entre las más importantes se encuentran: *Ocotea bofo*, *Anacardium excelsum*, *Protium heptaphyllum*, *Ouratea guildingiie*, *Ormisia macrocalyx* y *Vochysia lehmannli* (Aymard et al. 1989). Los cultivos de ciclo corto (maíz y frijol) son principalmente cultivos de secano, con una preparación del suelo convencional a inicio de lluvias, que deja el suelo totalmente desnudo. Para determinar la posición en el área de estudio, en cada ecosistema se demarcó un transecto en orientación al drenaje natural con rumbo NE-SW, que fue subdividido en tres términos, superior, medio e inferior. En todos los términos se ubicaron tres puntos a una distancia aproximada de 80 metros (en zig-zag) y en cada uno de éstos se tomaron muestras a tres profundidades: 0-10 cm, 10-20 cm y 20-30 cm. Por lo tanto se obtuvieron 27 muestras por agrosistemas, para un total de 81 muestras. Estas fueron cuarteadas y divididas en dos fracciones. La primera fracción fue secada al aire, triturada y pasada por un tamiz de 2 mm. Se utilizó en los análisis físico-químicos del suelo y en la determinación del carbono orgánico total (Anderson e Ingram, 1993). La segunda fracción fue conservada con la humedad del campo, sin secar, y guardada en bolsas plásticas bajo refrigeración a 4 °C.

Métodos de Análisis. La actividad de la fosfatasa ácida se determinó por el método de Tabatabai & Bremner (1969); la actividad de la ureasa por el método de Kandeler y Gerber (1988) y la actividad de la proteasa por el método de Ladd y Butler (1972).

Análisis de Datos. El análisis estadístico de los datos se efectuó con el programa Statistix for Window versión 8 (Statistix, 2003). El ANOVA se realizó mediante el análisis de Kruskall Wallis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Carbono Orgánico Total. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los contenidos de carbono orgánico total en los tres ecosistemas estudiados. Los valores más altos se encontraron en el suelo del bosque de galería y los más bajos en suelo bajo pasto (cuadro 1). El carbono orgánico total en el suelo sembrado con cultivos de ciclo corto no mostró diferencias significativas con respecto al del bosque de galería ni al del suelo bajo pasto. Posiblemente esto pueda explicarse por el hecho de que el agrosistema de cultivo de ciclo corto lleva poco tiempo de establecido (alrededor de 3 años), por tanto, su manejo actual no ha influido significativamente en el porcentaje de carbono orgánico total.

Actividad de la ureasa. La actividad de la ureasa varió entre 7,5 y 60,6 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Figura 1). En otras investigaciones se han obtenido valores similares, por ejemplo, en suelos de Calabozo, estado Guárico, se han encontrado actividades comprendidas entre 5 y 86 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Paolini, 1999), y en suelos de la cuenca del lago de Valencia se registraron valores comprendidos entre 16 y 86 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Ruiz, 2002). En los tres ecosistemas estudiados los valores presentaron una disminución comprendida entre 50 y 65% a la profundidad de 10 a 20 cm, y entre 60 y 80% en la sección de 20 a 30 cm, en comparación con la actividad determinada en los 10 primeros centímetros. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la actividad de la ureasa en el agrosistema de cultivo de ciclo corto y la de los otros dos ecosistemas a la profundidad de 0 a 10 cm. El mayor valor de la actividad de la ureasa en el agrosistema de ciclo corto podría estar relacionado con la textura de ese suelo, que presenta menor porcentaje de arcilla. La ureasa, por ser una enzima extracelular, puede quedar inmovilizada o estabilizada por diferentes componentes de la fracción coloidal como las arcillas o los complejos organominerales (Joinville et al., 2004), por lo tanto, la textura de los suelos pudiese en este caso determinar en alguna extensión la divergencia en la actividad de la enzima en los tres ecosistemas. No se encontraron diferencias significativas entre los valores correspondientes a los suelos bajo pasto y vegetación natural.

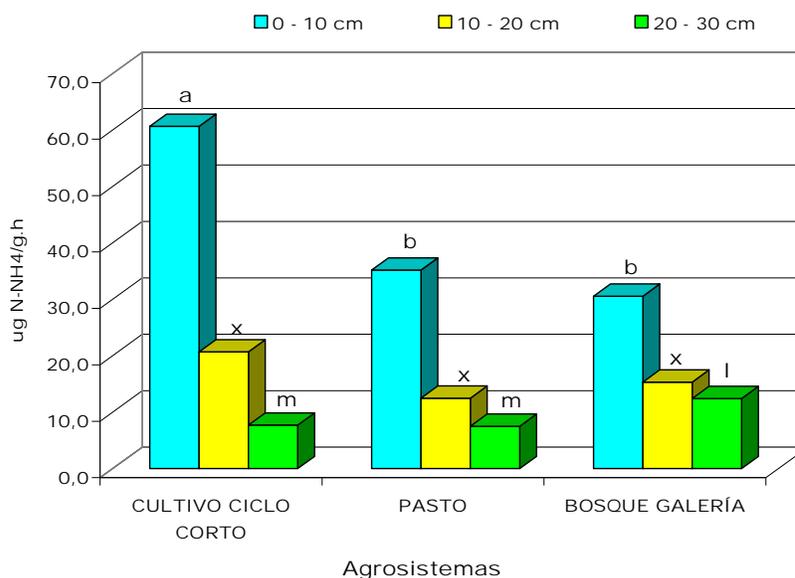


Figura 1. Actividad de la ureasa en los suelos estudiados. Las barras que presentan la misma letra corresponden a medias que no son estadísticamente diferentes

Actividad de la proteasa. Los valores de la actividad de la proteasa variaron entre 3,4 y 39,9 $\mu\text{g Tirosina g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 2). Estos valores son más bajos que los observados en suelos cultivados y bajo vegetación natural de la Cuenca del Lago de Valencia, comprendidos entre 67 y 404 $\mu\text{g Tirosina g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Ruiz, 2002). Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la actividad de la proteasa correspondiente al bosque de

galería y la del agrosistema de cultivo de ciclo corto, siendo menor en este último. En el bosque, la mayor entrada de residuos vegetales, con una cierta proporción de proteínas, cuya hidrólisis es catalizada por las proteasas, estimula el desarrollo y la actividad de la microbiota, y por tanto, la producción de esta enzima (Paolini, 2003). Estos resultados coinciden con los de otros estudios, en los que se observaron valores mayores de la actividad de esta enzima en suelos bajo vegetación natural, en comparación con suelos sembrados con caña de azúcar y banano (Ruiz, 2002). En los tres ecosistemas, la actividad de la proteasa se reduce por debajo de los 10 cm de profundidad del suelo, pero esta disminución también parecería estar relacionada con el porcentaje de carbono orgánico (Cuadro 1) y la presencia de residuos orgánicos en cada estrato, provenientes en parte de las raíces de las especies presentes. En este sentido, se observa que el mayor decrecimiento en el contenido de carbono con la profundidad ocurre en el suelo sembrado con pasto, en el que este elemento se reduce en 67% y la actividad de la proteasa en 79%, mientras que en los suelos bajo cultivo de ciclo corto y bosque, el carbono disminuye en 42 y 54% y la actividad de la proteasa en 44 y 56% respectivamente.

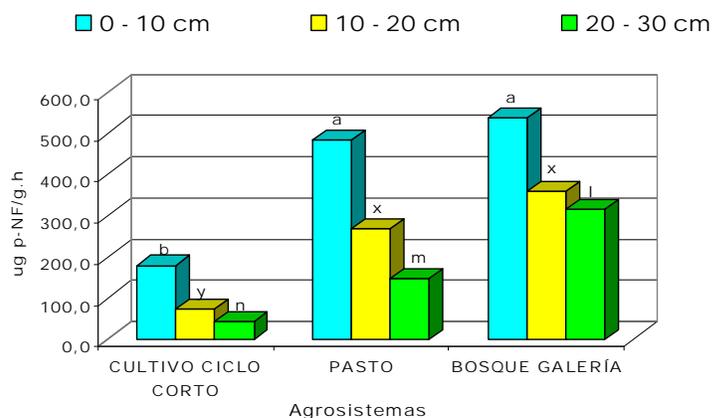


Figura 2. Actividad de la proteasa en los suelos estudiados. Las barras que presentan la misma letras corresponden a medias que no son estadísticamente diferentes

Actividad de la fosfatasa ácida. La actividad de la fosfatasa varió entre 42,3 y 537,5 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Figura 3). Estos valores son similares a los encontrados por Ruiz (2002), comprendidos entre 98 y 898 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}\text{h}^{-1}$ para suelos del Lago de Valencia; y por Paolini (1999), entre 103 y 545 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}\text{h}^{-1}$ en suelos ubicados en Calabozo, estado Guárico; y también se encuentran en el intervalo hallado para suelos de otras regiones tropicales, como el Cerrado Brasileño, donde se han registrado valores entre 180 y 905 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Kulinska et al., 1982). Las actividades enzimáticas más altas correspondieron a los suelos bajo pasto y vegetación natural, las cuales presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a las del suelo bajo cultivo de ciclo corto. Estas diferencias están relacionadas con la incorporación de restos orgánicos, ya que una tasa de entrada residuos más alta trae como consecuencia un mayor desarrollo de los microorganismos (Kirshmann y Eklund, 1994) y por ende una mayor producción de enzimas (Bandick y Dick, 1999).. En

los tres ecosistemas la actividad de la fosfatasa ácida disminuye con la profundidad, pero mientras en el suelo de bosque de galería se reduce en un 30 % debajo de los 10 cm de profundidad, en el suelo bajo pasto lo hace en un 45 % y en el suelo sembrado con cultivo de ciclo corto decrece en más de 60 %.

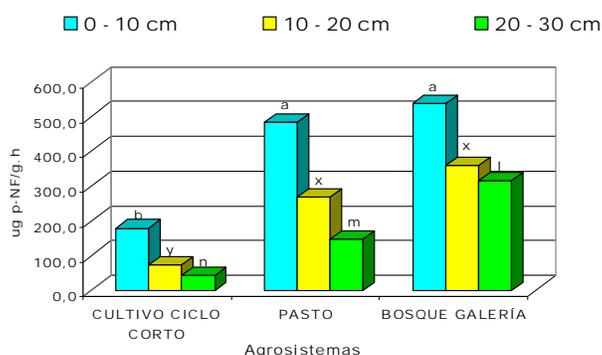


Figura 3. Actividad de la fosfatasa ácida en los suelos estudiados. Las barras que presentan la misma letra corresponden a medias que no son estadísticamente diferentes

CONCLUSIONES

La actividad de la ureasa resultó significativamente mayor en el agrosistema de cultivo de ciclo corto, mientras que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores correspondientes a los suelos bajo pasto y vegetación natural. Las actividades de la proteasa y fosfatasa mostraron valores más altos en los suelos bajo vegetación natural y pasto. Aún cuando no se distinguieron diferencias en el contenido de carbono orgánico total en los suelos bajo cultivo de ciclo corto y vegetación natural, las actividades de la fosfatasa ácida y de la proteasa lograron evidenciar divergencias, por lo que podrían ser consideradas como bioindicadores tempranos de los cambios que ocurran en la calidad de esos suelos.

BIBLIOGRAFÍA

- ADRIAANSE, A. 1993. Environmental Policy Performance Indicators. A Study on the Development of Indicators for Environmental Policy in the Netherlands. Sdu Uitgeverij Koninginnergrach, The Netherlands.
- ANDERSON, J. AND J. INGRAM. Tropical soil Biology and fertility: A Handbook of methods. CAB International. Wallingford, UK. 1993, 62 p.
- ASTIER, C.M., MASS-MORENO, M. y ETCHEVERS, B.J. 2002. Derivación de indicadores de calidad de suelo en el contexto de la agricultura sustentable. Agrociencia 36: 605-620.
- AYMARD. Y N. CUELLO.1989. Composición florística presente en el área del futuro parquet metropolitano "Los Cospes". Distrito Guanare. Estado Portuguesa. Boletín Técnico del Programa R.N.R. N° (9) 15: 220- 279. UNELLEZ. Venezuela.
- BANDICK, A.; R. DICK. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. Soil Biol. Biochem. 31: 1471-1479.

- DICK, R.P., 1997. Enzyme activities as integrative indicators of soil health, in: Parkhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (Eds.), *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, Oxon, United Kingdom, pp. 121–156.
- GARCÍA, C., GIL F., HERNÁNDEZ T., TRASAR C., 2003. *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicas en suelos: medidas de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. Ediciones Mundi-Prensa. España. 371 pp.
- JOINVILLE S., M. REVAULT, H. QUIQUAMPOIX, M.H. BARON. 2004. Structural Effects of Drying and Rehydration for Enzymes in Soils: Kinetics-FTIR Analysis of Chymotrypsin Adsorbed on Montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science*. 273: 414–425.
- KANDELER, E.; H.GERBER. 1988. Short-term assay of urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soil*. 6: 68-72.
- KIRSHMANN, H.; M. EKLUND. 1994. Microbial biomass in a savanna-woodland and adjacent arable soil profile in Zimbabwe. *Soil Biol. Biochem*. 26: 1281-1283.
- KULINSKA, D.; V.L. CAMARGO; A. DROZDOWEIZ. 1982. Enzyme activities in Cerrado soils in Brazil. *Pedobiología* 24: 101-107.
- LADD, J.N.; J.H.A. BUTLER. 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem*. 4 : 19-30.
- LUGO-MORIN, D.R. & REY, J. C. 2009. Evaluación de la vulnerabilidad a la degradación agroambiental a través del uso del sistema microleis en los suelos de los Llanos Centrales de Venezuela. *Rev. Int. Contam. Ambient*. 25(1):43-60.
- MARTENS, D. A.; J.B. JOHANSON; W.T. FREANKENBERGER. 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated additions of organic residues. *Soil Sci*. 153:53-61.
- NANNIPIERI, P.; S. GREGO; B. SECCANTI. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *En: Bollag J. M.; G. Stotzky (Eds.). Soil Biochemistry*, vol 6. Marcel Dekker, New York. p 293- 355.
- PAOLINI, J. 1999. Enzymatic activities in two soil toposequence in the High Plains. *En: Enzymes in the environment: activity, ecology and applications*. 12-15 julio, 1999. Granada (España).
- PAOLINI, J. 2003. Actividades enzimáticas en suelos de los altos llanos centrales (estado Guárico). *Venesuelos* 11(1-2):39-46.
- RUIZ, M. 2002. Caracterización de la materia orgánica y la actividad biológica de suelos de la Depresión del Lago de Valencia sometidos a diversas formas de manejo. Tesis Doctoral. Postgrado en Ciencia del Suelo. Maracay, Venezuela. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 257 p.
- STATISTIX 2003. *STATISTIX for Windows version 8.0. User's Manual*. Analytical Software. Tallahassee, FL, USA.
- TABATABAI, M.A.; J.M. BREMNER. 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem*. 1:301-307.
- TEJOS, R. 2004. Alternativas de manejo de pastos tropicales introducidos en los llanos venezolanos. XII Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, Maracay, Venezuela. p. 203-219.